

UNIVERSIDADE DO PORTO | INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL  
SALAZAR

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

# Fatores Genéticos e Cromossomais na Perda Gestacional

---

ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

DISCENTE:

Sara Sofia Almeida Heleno

6º Ano Profissionalizante | Mestrado Integrado em Medicina

ICBAS

ORIENTADOR:

Joaquim de Jesus Gonçalves

Professor Auxiliar Convidado ICBAS-UP

Serviço de Obstetrícia Centro Hospitalar do Porto

**Porto**

**Junho 2014**

**Nome:** Sara Sofia Almeida Heleno

**Afiliação:** Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar  
Universidade do Porto

## Fatores Genéticos e Cromossomais na Perda Gestacional: Caso particular do Abortamento de Repetição

---

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina submetida ao Instituto de Ciências  
Biomédicas Abel Salazar

**Área:** Ginecologia e Obstetrícia

**Orientador:** Dr. Joaquim Gonçalves

**Categoria:** Assistente graduado de Obstetrícia e Subespecialista em  
Medicina materno-fetal e Medicina da Reprodução

**Afiliação:** Serviço de Obstetrícia do Centro Hospitalar do Porto

## **Agradecimentos**

---

Este espaço é dedicado, não só àqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração desta dissertação, mas também a todos os que me acompanharam ao longo da minha formação acadêmica. Destaco algumas pessoas às quais agradeço profundamente, deixando algumas palavras de sincero reconhecimento.

Ao meu tutor, professor Doutor Joaquim Gonçalves, pelo incentivo, apoio e confiança transmitidos, material facultado, e auxílio nas dificuldades encontradas.

À Dr.<sup>a</sup> Ana Cristina Gonçalves pela amabilidade e disponibilidade no esclarecimento de questões sobre bases de dados.

Às minhas amigas e colegas, Bernardete Machado, Filipa Martins, Lisa Pires, e Ana Isabel Coelho, pela partilha e companheirismo sempre demonstrados.

Aos meus queridos e inestimáveis Pais, pela dedicação, esforço, paciência e apoio incondicionais. Aos meus irmãos, em especial ao João, pela paciência, conselhos, ânimo e força diários, de valor verdadeiramente incomensurável, particularmente nos momentos difíceis. A eles dedico este trabalho.

## ÍNDICE

RESUMO .....	I
ABSTRACT .....	II
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	III
INTRODUÇÃO .....	1
OBJETIVOS .....	5
METODOLOGIA .....	5
FATORES GENÉTICOS/CROMOSSOMAS .....	6
Abortamento espontâneo esporádico .....	9
Abortamento recorrente.....	9
Idade materna (IM) .....	12
Abortamentos de repetição inexplicáveis/idiopáticos .....	13
ABORDAGEM DIAGNÓSTICA GERAL .....	19
OPÇÕES TERAPÊUTICAS .....	22
PROGNÓSTICO.....	24
CONCLUSÕES .....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Algoritmo de avaliação/abordagem diagnóstica.....	19
Figura 2. Avaliação materna na sequência de várias perdas gestacionais .....	20

## RESUMO

---

**Introdução.** O abortamento corresponde à terminação da gravidez antes de o produto de concepção (PC) atingir uma idade gestacional viável. O Abortamento de Repetição (AR) pode ser definido pela ocorrência de três ou mais abortamentos espontâneos de gestações clínicas até às 24 SG. Trata-se de um distúrbio que afeta 10 a 20% das mulheres em idade reprodutiva. As condições patológicas variam consoante o período gestacional considerado.

**Objetivo.** Revisão literária do abortamento nas suas variantes, com a descrição dos principais distúrbios genéticos e cromossómicos implicados no abortamento espontâneo esporádico, e no abortamento de repetição, discutindo orientações para um estudo diagnóstico e seleção terapêutica adequados.

**Desenvolvimento.** Os distúrbios genéticos surgem como o tipo de fator mais frequentemente implicado na ocorrência de abortamento e abortamento recorrente. Os respetivos mecanismos etiopatogénicos têm sido alvo de estudo e observação, estando confirmado o envolvimento de várias anomalias cromossómicas e distúrbios de gene único. Alguns polimorfismos génicos – afetando diversas fases da gestação – têm sido equacionados pelo seu papel nos abortamentos recorrentes de causa desconhecida. No contexto de AR, destacam-se ferramentas diagnósticas, como a avaliação cariotípica, que contribuem para a compreensão das bases patogénicas, e seleção das opções terapêuticas mais adequadas, de entre as quais o DGPI.

**Conclusão.** A perda gestacional recorrente acarreta impacto significativo entre os casais afetados, desencadeando respostas emocionais adversas. Em cerca de metade dos casos, não há identificação da causa. É recomendável a integração de informação proveniente de disciplinas como genética e obstetria, de forma a validar a investigação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Abortamento; Abortamento espontâneo; Abortamento recorrente; Perda Gestacional Recorrente; Genética; Fatores Cromossómicos; Diagnóstico Pré-natal (DPN); Diagnóstico Genético Pré-Implantação (DGPI).

## ABSTRACT

---

**Introduction.** Miscarriage corresponds to the spontaneous ending of pregnancy before the fetus has attained the stage of viability. Recurrent miscarriage is defined by three or more spontaneous pregnancy losses of clinically recognized pregnancies less than 24 weeks of gestation. Abortion affects 10 to 20% of women. Underlying pathological conditions vary according to the gestational period.

**Purpose.** Literature review on miscarriage, specifically recurrent miscarriage and genetic factors frequently implicated in sporadic and recurrent miscarriage, also emphasizing diagnosis and management of these conditions.

**Development.** Genetic conditions appear as the most common factor implicated on miscarriage and recurrent miscarriage. Corresponding mechanisms have been object of observation, been already established the role of chromosomal abnormalities as well single gene anomalies. Genetic polymorphisms – affecting different components of pregnancy – have also been proposed as possible explanation of miscarriages with no identifiable etiology. A few diagnostic approaches, as karyotype evaluation, do allow the comprehensive understanding of the disturbance, and the selection of more appropriate treatment tools, such Preimplantation genetic diagnosis.

**Conclusion.** Recurrent pregnancy loss entails significant psychological impact in couples with recurrent miscarriage, potentially triggering emotional adverse responses. About a half of cases have no identifiable causes. Hence, it is necessary and important to diversify the procedures by the inclusion of information from different disciplines such genetics and obstetrics, in order to validate investigation.

**KEY-WORDS:** Miscarriage; Spontaneous miscarriage; Recurrent Miscarriage; Recurrent Pregnancy Loss; Genetics; Chromosomal factors; Prenatal Diagnosis; Preimplantation Genetic Diagnosis.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

---

<b>AG</b> – Aconselhamento Genético	<b>HLA</b> – Antígeno Leucocitário Humano
<b>AR</b> – Abortamento Recorrente/de Repetição	<b>KDR</b> – Recetor de VEGF
<b>ASRM</b> – <i>American Society for Reproductive Medicine</i>	<b>LAC</b> – Anticoagulante Lúpico
<b>DGPI</b> – Diagnóstico Genético Pré-Implantação	<b>MTHFR</b> – Metilenotetrahidrofolato redutase
<b>DPN</b> – Diagnóstico Pré-Natal	<b>NO</b> – Óxido Nítrico
<b>DNA</b> – Ácido Desoxirribonucleico	<b>PA</b> – Produto de Abortamento
<b>DTN</b> – Defeitos do Tubo Neural	<b>PAI-1</b> – Inibidor do Ativador do Plasminogénio tipo 1
<b>ECA</b> – Enzima Conversora da Angiotensina	<b>PC</b> – Produto de Conceção
<b>ECR</b> – Ensaios Clínicos Randomizados	<b>PECAM-1</b> – <i>Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule</i>
<b>eNOS</b> – Óxido Nítrico Sintase Endotelial	<b>PGR</b> – Perda Gestacional Recorrente
<b>ER</b> – Recetor de Estrogénio	<b>PGS</b> – Rastreio Pré-Implantação
<b>ESHRE</b> – <i>European Society of Human Reproduction and Embryology</i>	<b>PMA</b> – Procriação Medicamente Assistida
<b>FAP</b> – Fosfatase Alcalina Placentária	<b>PR</b> – Recetor de Progesterona
<b>FIV</b> – Fertilização <i>in vitro</i>	<b>RA</b> – Recetor de Androgénio
<b>ICSI</b> – Injeção intracitoplasmática de espermatozoides	<b>RN</b> – Recém-nascido
<b>IEX</b> – Inativação Enviesada do X	<b>RR</b> – Risco de Recorrência
<b>IM</b> – Idade Materna	<b>SNPs</b> – <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
<b>hCG</b> – gonadotropina coriónica humana	<b>TEV</b> – Tromboembolismo Venoso
<b>HIF-1</b> – Fator Induzido por Hipóxia	<b>TH</b> – Trombofilias Hereditárias
	<b>VEGF</b> – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

## INTRODUÇÃO

---

Os mecanismos envolvidos na reprodução humana são altamente complexos, sendo este processo relativamente ineficiente. (1-3)

Estudos epidemiológicos demonstram que a fecundidade – probabilidade de alcançar uma gestação de sucesso, por ciclo menstrual – é de apenas 20-25%, em humanos. (4-6)

Paralelamente à subfertilidade, a incidência de dissipação embrionária e perda gestacional é também elevada. (6, 7) O abortamento é das complicações mais frequentes de entre todos os desfechos adversos da gravidez. (3, 4, 8-11)

### PERDA GESTACIONAL/ABORTAMENTO

#### Definição e Classificação

Um abortamento corresponde a uma gravidez intrauterina, clinicamente estabelecida, que termina espontaneamente, antes de o produto de concepção (PC) atingir uma idade gestacional viável (4, 11-13) – antes das 24 SG (8), culminando na morte e expulsão do feto/embrião. (14)

Historicamente, as perdas gestacionais ocorridas antes das 22 semanas de gestação (SG) são referidas como abortamentos; após as 22 SG são designadas mortes neonatais. (15) Outra definição aceita refere que o feto deve ter um peso  $\leq 500$  gramas, um estadio correspondente a  $\leq 20$  semanas de idade gestacional (IG). (8, 14, 16)

Segundo a *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE), uma perda gestacional sucedida após análise positiva da hCG (gonadotropina coriônica humana) ou após elevação do nível sérico de  $\beta$ -hCG – mas antes da observação ecográfica ou confirmação histológica – é definida como “perda bioquímica” (7, 12) (geralmente antes das seis SG). (7, 15) Utiliza-se a expressão “abortamento clínico” quando o exame ecográfico ou análise histológica haviam confirmado a existência de uma gravidez intrauterina. (12, 15) Estes podem ocorrer precocemente (antes da 12ª semana gestacional) ou numa fase tardia (da 12ª à 21ª ou 24ª semana gestacional). (7, 8, 15, 17)

As perdas gestacionais poderão ser ainda classificadas de acordo com as fases de desenvolvimento gestacional em pré-embrionárias (0-5 semanas), embrionárias (6ª-8ª SG), ou fetais (a partir das 8 SG). (15, 18)

Por fim, os abortamentos espontâneos são categorizados em eventos esporádicos ou recorrentes (AR). (19, 20)

#### Abortamento Recorrente (AR) – Controvérsias:

Os pontos discordantes no que concerne à definição de AR/Perda Gestacional Recorrente (PGR) prendem-se com o número de abortamentos requeridos para um diagnóstico, o papel dos abortamentos não-consecutivos e a importância das perdas pré-clínicas. (21)



A ESHRE define Abortamento de Repetição como três ou mais perdas gestacionais consecutivas antes das 22 SG. (7, 22) Para a *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM), a síndrome de abortamento de repetição (SAR) é definida por duas ou mais gestações falhadas. (22, 23)

Nas linhas de orientação americanas constam ainda os seguintes critérios:

≥ 3 Abortamentos clínicos e perdas bioquímicas consecutivos;

≥ 2 Perdas gestacionais não necessariamente consecutivas, antes das 24 SG. (21)

Diversos autores consideram o abortamento espontâneo recorrente como a ocorrência de três ou mais abortamentos espontâneos de gravidezes, clinicamente diagnosticadas, no decurso das primeiras 24 SG (8, 18, 24, 25); outros consideram um período mais restrito – antes da 20ª semana. (1, 26-34)

O AR primário é diagnosticado em casais sem qualquer gravidez anterior completa, viável; no AR secundário houve pelo menos uma gestação além das 20 semanas, ocorrendo perdas gestacionais subsequentes. O AR terciário diz respeito a casais com múltiplos abortamentos intercalados com gestações de termo. (2, 22, 35)

### Epidemiologia

A maioria das perdas gestacionais é esporádica, abortos espontâneos não-consecutivos que ocorrem como um evento isolado. (2) São relativamente comuns, afetando 10-20% das mulheres durante a sua vida reprodutiva. (2)

Estima-se que a perda de gestação reconhecida clinicamente ocorra em 15-25% das gestações; (10, 12, 15, 22, 29, 36, 37) outras fontes reportam uma prevalência de 10 a 15%. (1, 2, 16)

Verifica-se que a maioria (90%) dos abortamentos ocorre no período embrionário (18) – antes das 12-14 SG; (2, 36) os abortamentos no 2º trimestre (12-24 semanas) representam 1 a 5% dos casos. (2-4, 8)

Comparativamente ao abortamento esporádico, a prevalência do abortamento recorrente é consideravelmente inferior. (4, 7) Menos de 5% das mulheres sofrem dois abortamentos consecutivos, e apenas 1-3% três ou mais. (11, 13, 24, 35, 38, 39)

Como a incidência de abortamento recorrente é superior ao que seria de esperar pelo acaso, aquele é considerado uma entidade patológica com um número de possíveis etiologias, (7, 15, 29); o risco de abortamento aumenta com o número de abortamentos prévios (1, 4, 16, 28, 40), ou com determinadas características da perda-índice, como cariótipo ou morfologia. (4)

### Etiologia

Apenas 50-60% dos abortamentos têm etiologia identificada. (36, 41, 42) A origem pode residir na genética, na anatomia uterina, nos sistemas endócrino ou imunológico, em estados hematológicos ou em fatores ambientais. (1, 11, 27, 36)

O abortamento, quer esporádico quer recorrente, é reconhecido como um distúrbio dicotômico, atribuído quer a anomalias cromossômicas e outras do desenvolvimento embrionário, quer a fatores uterinos. (6, 16)

✓ Abortamentos no 1º trimestre ( < 12 semanas)

A maioria é devida a anomalias cromossômicas. (1, 8)

✓ Abortamentos tardios (entre as 12 e as 24 SG)

O espectro de patologias subjacentes neste período inclui infecções, incompetência cervico-ístmica, anomalias anatômicas uterinas, ou trombofilias. (1, 8) Quando implicada uma anormalidade genética (trissomias 13, 18 e 21; monossomia do X; polissomias dos heterossomas<sup>1</sup>), esta manifesta-se aquando o parto, ou envolvendo uma mutação/deleção de gene. (8)

O Abortamento de Repetição (AR) surge como uma condição heterogênea, com uma fisiopatologia complexa (2, 25, 40, 41, 43) e várias etiologias prováveis: (44)

- Anomalias cromossômicas parentais;
- Distúrbios imunológicos; SAF;
- Anomalias da anatomia uterina;
- Incompetência cervico-ístmica; (1, 41, 43)
- Distúrbios endócrinos; Síndrome de Ovário Poliquístico / hipersecreção de Hormona Luteinizante;
- Estados pró-trombóticos (deficiência de antitrombina III, deficiência de proteína C ou S);
- Situações menos definidas: defeito de fase lútea, homocisteinemia, fatores ambientais, doença crónica materna, hiperprolactinemia, autoanticorpos anti-tiróideus, hipotireoidismo, e partilha aumentada de Antígeno Leucocitário Humano (HLA). (28, 43)

Tem sido difícil estabelecer a contribuição relativa destas anormalidades. (4) O paradigma corrente de AR e da sua abordagem são apoiados por um contexto de doença pré-existente que sustenta a perda gestacional recorrente. (6, 36)

Verifica-se que, quando não é encontrada uma etiologia depois de uma avaliação completa, 60-70% dos casais conseguem posteriormente uma gestação viável de termo. (36, 42)

---

<sup>1</sup> Cromossomas sexuais

### Decidualização uterina e Implantação embrionária

A reprodução humana é restringida pela prevalência elevada de erros cromossômicos no embrião, previamente à implantação, (6) estando demonstrada uma elevada taxa de aneuploidia embrionária em casais com falha recorrente de implantação. (5, 45)

As células decidualizadas são encaradas como biossensores de qualidade do embrião. A decidualização cíclica do endométrio seguida da hemorragia menstrual constitui uma resposta adaptativa materna – entendida como “pré-condicionamento” – permitindo reconhecer e eliminar embriões inadequados. (6)

Uma recetividade uterina desapropriada é responsável por, aproximadamente, dois terços de falhas na implantação, sendo uma causa de abortamento espontâneo recorrente. (6, 24, 46)

### Seleção natural comprometida e Abortamento Recorrente

A PGR pode ser consequência da incapacidade das células do estroma endometrial em decidualizar-se adequadamente, verificando-se uma recetividade endometrial aprimorada, mas reconhecimento e seleção embrionários reduzidos. (6) A falência do mecanismo de controlo de qualidade do embrião permite a implantação de embriões destinados ao fracasso, causando perdas recorrentes de gestações clinicamente reconhecidas (6, 12, 47) – AR como falha do controlo de qualidade. (18)

O abortamento pode operar como processo de seleção natural, conduzindo à interrupção da gravidez aquando da implantação de embriões não-equilibrados. (18, 48) Nesta medida, a maioria das gestações cariotipicamente anormais (90%) perdem-se no decurso do 1º trimestre, enquanto que a maioria (93%) das gestações com cariótipo normal prosseguem. (18)

## **OBJETIVOS**

---

Descrição dos principais distúrbios genéticos e cromossômicos implicados no abortamento espontâneo e no abortamento de repetição, discutindo as bases fisiopatológicas provavelmente implicadas, a par das orientações para um estudo diagnóstico e abordagem terapêutica adequados.

Abordagem dos abortamentos recorrentes de etiologia desconhecida com exposição de causas genéticas recentemente descritas.

## **METODOLOGIA**

---

Recurso à Internet – particularmente aos motores de busca “PubMed”, “MEDLINE” e “Web of Science”, com inclusão de revisões sistemáticas, estudos coorte e caso-controlo, trabalhos de tipo experimental, meta-análises; publicados entre 2000 e 2014. Os termos aplicados foram: abortamento, abortamento espontâneo, abortamento recorrente, perda gestacional recorrente, fatores genéticos e cromossômicos, diagnóstico pré-natal, diagnóstico genético pré-implantação.

## FATORES GENÉTICOS/CROMOSSOMAS

---

Existe uma ampla variedade de fatores genéticos que podem estar na gênese da inviabilidade da gravidez. (42) Entre eles, incluem-se a aneuploidia (perda/ganho de um cromossoma); desequilíbrios cromossomais derivados de translocações ou inversões transmitidas pelos progenitores; deleções ou duplicações de material genético no interior de cromossomas; e mutações de gene único. (42)

Goddijn et.al. (2000) referem que os mecanismos genéticos podem ser categorizados em anormalidades citogenéticas; anormalidades de gene único; e outros mecanismos, tais como distúrbios multifatoriais e inativação enviesada do cromossoma X (IEX). (49)

### ▪ Distúrbios Cromossômicos

Estes distúrbios podem ser subdivididos em erros embriônicos derivados de anomalias cromossômicas parentais conhecidas, e erros embriônicos ocorridos de novo, num contexto de progenitores citogeneticamente normais. (42)

Cerca de 40% dos abortos espontâneos possuem alguma alteração cromossômica; um valor significativamente superior ao encontrado em recém-nascidos – 0,5%. (16) Outras fontes referem que pelo menos 50-60% de todos os abortamentos estão associados com anormalidades citogenéticas, (50) sendo que a frequência de complemento cromossômico anormal é maior (até 90%) quando a perda se dá precocemente no decurso da gestação. (3)

As anormalidades citogenéticas podem ser divididas em anomalias numéricas; cromossomopatias estruturais; e outros mecanismos, como mosaicismo. (49) A maioria destas anomalias é numérica e menos de 10% são causadas por alterações estruturais ou outros mecanismos genéticos. (3, 49)

#### 1) Anomalias cromossômicas numéricas

Podem ser aneuploidias<sup>2</sup> (trissomias e monossomias) e poliploidias<sup>3</sup>. (49)

A aneuploidia fetal constitui a causa mais importante de abortamentos espontâneos, particularmente antes das 10 SG. (50-52) A maioria das aneuploidias humanas deriva de erros na primeira divisão meiótica do ócito, que é iniciada no período pré-natal, não estando finalizada até à ovulação. (50)

Com maior frequência ocorrem trissomias, seguidas por poliploidia e monossomia do X. (3, 8, 16, 49, 50) A maioria das trissomias ocorrem como resultado de não-disjunção durante a meiose I materna. A trissomia do 16 é a mais comum. (16, 49) As trissomias 13, 18, 21 e 22 são também frequentes. (49)

---

<sup>2</sup> Número de cromossomas diferente de 46; aumento/diminuição do número de pares de cromossomas mas não de todos.

<sup>3</sup> Presença de mais de dois conjuntos de cromossomas homólogos

A monossomia do X ocorre pela perda do cromossoma sexual, geralmente o de origem paterna. (49) Nos abortamentos, as monossomias dos autossomas são observadas menos frequentemente do que as monossomias X, sendo responsáveis por perdas gestacionais muito precoces – abortos pré-clínicos. (8, 14, 49) Este mecanismo de seleção natural poderá também atuar durante a embriogénese – na pré-implantação –, havendo uma perda progressiva de embriões anormais em estádios precoces do desenvolvimento através da interrupção do seu desenvolvimento e subsequente degeneração. (14)

Poliploidia, triploidia ( $3n=69$ ) ou tetraploidia ( $4n=92$ ) resultam da adição de um ou mais conjuntos cromossómicos haploides. Os mecanismos mais frequentes de triploidia são a dispermia e a falência da divisão celular meiótica materna, resultando em oócitos diploides. A tetraploidia resulta da falha mitótica após fertilização. (49) Existe correspondência entre o fenótipo dos fetos com triploidia e a origem parental do grupo adicional de cromossomas. (49) Fetos com um crescimento relativamente normal em associação com uma placenta grande cística parecem ter um grupo extra de cromossomas paternos, enquanto os fetos com marcada restrição de crescimento intrauterino e uma cabeça desproporcionalmente grande, sem hiperplasia trofoblástica, parecem ter cromossomas adicionais de origem materna. (49) Correspondem a distúrbios letais, raramente encontrados em abortos tardios. (3)

O risco de trissomia aumenta com a idade materna. (49, 52) A monossomia do X está inversamente associada com a idade materna, enquanto a relação das poliploidias com a idade materna é ainda incerta. (49)

O risco de recorrência das anomalias numéricas é baixo; o risco de recém-nascido (RN) com trissomia – após aneuploidia prévia em aborto precoce – é inferior a 2%. (3) Por outro lado, um feto com cariótipo normal é preditivo de aborto seguinte num casal afetado por múltiplos abortamentos. (3)

## **2) Anormalidades cromossómicas estruturais**

Estas podem ser subdivididas em deleções, translocações, inversões e duplicações; apenas as translocações e as inversões intervêm no abortamento esporádico, e recorrente. (49)

Cerca de metade destas anomalias surge de novo, durante a gametogénese; a outra metade pode ser herdada de um progenitor portador de uma translocação ou inversão equilibradas. (49) Estão presentes em menos de 2% dos abortamentos esporádicos mas são uma possível causa de AR. (3)

O risco de abortamento em portadores de translocações depende da secção do cromossoma afetado, sendo maior quanto maior a secção, no caso das inversões paracéntricas. (16) A taxa de abortamento de trissomias derivadas de translocações robertsonianas depende do cromossoma envolvido; se a trissomia afeta o 21, a gravidez termina em aborto em 50% dos casos, elevando-se para 99% se o cromossoma afetado por trissomia for o 13 ou 14. (16)

As translocações de alguns cromossomas (1, 7 ou 22) conduzem à morte fetal, enquanto outras envolvendo os cromossomas 5, 9, 14 ou 21, são mais prováveis de produzir um nado-vivo, embora com algum grau de incapacidade. (17)

### 3) Mosaicismo cromossómico

No mosaicismo, duas ou mais linhas germinativas diferentes estão presentes num indivíduo. Dependendo do *timing* do evento mutacional – antes ou após a diferenciação dos compartimentos embrionários e coriônicos –, o mosaicismo pode ser encontrado na placenta e embrião, ou em apenas um deles. (49) Diferentes tipos de mosaicismo podem intervir na perda fetal. A maioria dos abortamentos com mosaicismo representa um mosaicismo confinado à placenta, com ambas as linhas celulares representadas na placenta (encontrado em 19% de abortos). Existe correlação positiva entre mosaicismo placentário (diagnosticado por biópsia de vilosidades coriônicas) e morte celular fetal. Por outro lado, o mosaicismo pode ser um mecanismo de sobrevivência, estando descrito em gestações avançadas com trissomias do 13 e do 18, que têm uma linhagem celular normal confinada à placenta. (49)

#### ▪ Anormalidades de gene único

Os distúrbios de gene único associados com AR são distrofia miotónica, displasias esqueléticas letais, como displasia tanatofórica e osteogénese *imperfecta* tipo II. (49)

Uma anormalidade de gene único recentemente descoberta que provavelmente desempenha um papel em alguns casos de AR é a mutação Fator V Leiden, conforme discutido adiante. A frequência de portadores na população caucasiana é 3-4%. (49)

#### ▪ Outros mecanismos genéticos

Dentro desta categoria podem se destacar – na patogenia de abortamentos – distúrbios multifatoriais, anomalias cromossómicas do esperma e inativação enviesada do cromossoma X (IEX). (49)

Os distúrbios multifatoriais são o resultado de mutações/variantes de genes em vários *loci* em combinação com fatores ambientais. Os Defeitos do Tubo Neural (DTN) são um exemplo de doença multifatorial que pode condicionar abortamentos. (49)

A inativação do cromossoma X – ocorrida no período embrionário precoce – acontece aleatoriamente de forma que 50% das células femininas expressam o alelo paterno e a outra metade o alelo materno. (2, 49) A inativação enviesada do cromossoma X (IEX) é um distúrbio no qual a maioria das células expressam preferencialmente um cromossoma X parental em relação ao outro. (2, 44) Tem sido encontrada mais frequentemente em AR espontâneos quando comparada aos controlos. (27, 49) Várias hipóteses podem explicar esta associação, entre as quais mutações letais ligadas ao X no sexo masculino que causam inativação enviesada do X em portadores femininos, resultando na perda de embriões masculinos e aumento relativo de RN

femininos em portadores femininos. (29) A IEX pode ser indicativa de um risco aumentado de trissomia devido a redução do *pool* de precursores embrionários durante o desenvolvimento inicial das mulheres afetadas. Esta redução traduz-se em células trissômicas residuais nos oócitos (em mulheres cujo desenvolvimento foi associado com mosaicismo trissômico), e fraco crescimento *in utero* (da mulher quando ela própria era um embrião), conduzindo a uma redução do número total de folículos ovários primordiais. (29)

Encontram-se estabelecidos o papel das mutações ligadas ao X ao nível da IEX, e a taxa aumentada de aborto espontâneo em famílias. (29) São, no entanto, necessárias mais evidências para determinar este mecanismo genético. (2, 49)

### **Abortamento espontâneo esporádico**

As causas mais comuns de abortos espontâneos englobam cromossomopatias numéricas de novo, em particular as trissomias dos autossomas 13, 14, 15, 16, 21 e 22; seguidas de triploidias e monossomia do X. (3, 8, 14)

Observa-se uma frequência mais elevada de alterações cromossômicas na análise histopatológica do primeiro aborto, comparativamente com as amostras de segundos e terceiros abortamentos. (17) De facto, quanto maior o número de abortamentos numa paciente, menor será a probabilidade de que estejam relacionados com fatores cromossômicos. (17, 53)

As anomalias cromossômicas de novo no feto são, inclusive, uma causa *major* de abortamentos espontâneos esporádicos no 1º trimestre. (14, 17, 54)

Alguns erros no desenvolvimento de embriões euploides representam uma das principais causas de abortamento no 1º trimestre, correspondendo a uma incapacidade de o embrião cromossomicamente normal se desenvolver adequadamente, por anormalidades que afetam estruturas vitais mas resultando em embriões euploides. (42)

### **Abortamento recorrente**

Tanto as anomalias cromossômicas parentais como embrionárias têm sido implicadas na patogenia do abortamento de repetição, (27) contribuindo para mais de metade das perdas gestacionais recorrentes. (17, 36, 42)

A maioria das mulheres com abortamentos recorrentes tem perdas precoces (1º trimestre). (17, 36) Um pequeno grupo de mulheres tem abortamentos tardios, geralmente antes da 15ª-16ª semanas. (17)

A cultura e o cariótipo de abortamentos, de mulheres afetadas por AR, têm detetado taxas de anomalias cromossômicas fetais entre 25 e 75%, (18, 53) que podem ocorrer na presença de outros distúrbios, como SAF e trombofilias hereditárias. (53)

Estudos dos resultados reprodutivos de casais com história de PGR associada a um progenitor (materno ou paterno) portador de cromossomopatia estrutural são escassos. (55) O



risco reprodutivo conferido pelos rearranjos cromossômicos é dependente do tipo de rearranjo e se a alteração é transmitida pela mãe ou pelo pai. (2, 50) No geral, o risco é superior se a translocação for de origem materna. (2)

Algumas mulheres com AR poderão ser mais propensas a heterotrisomia, isto é, recorrência de uma trissomia diferente após uma gestação afetada por trissomia. (50)

→ Anomalias dos cromossomas parentais:

As anomalias cariotípicas parentais constituem uma importante causa de abortamento recorrente. (49, 56) Entre estas, incluem-se translocações, inversões e os raros cromossomas em anel. (42)

Casais com dois ou mais abortamentos apresentam probabilidade aumentada de qualquer um dos elementos do casal ser portador de uma cromossomopatia estrutural. (2, 26, 48, 49, 57) Estas cromossomopatias têm sido identificadas em 3-10% dos casais com AR, (26, 53, 56) em oposição a uma prevalência de 0,2-0,7% na população geral. (42, 58)

A anomalia mais frequentemente detetada em casais com AR é a translocação equilibrada, incluindo translocações Robertsonianas<sup>4</sup> (40%) e recíprocas<sup>5</sup> (60%) (2, 16, 42, 47, 48, 56, 59), pois a segregação durante a meiose origina gâmetas com duplicação ou deficiência de segmentos cromossômicos, (17) resultando em alteração não-equilibrada no feto. (41, 47) Entre as robertsonianas, as mais comuns – com uma frequência de 75% - envolvem os cromossomas 13 e 14. (59) Os portadores de translocação recíproca equilibrada são fenotipicamente normais, mas geram com maior frequência gâmetas anormais: 50-70% de gâmetas não-equilibrados. (50, 56)

Quando um dos progenitores é portador de uma anomalia cromossômica estrutural equilibrada, a gestação pode resultar em um de três tipos de descendência: criança com um perfil cromossômico normal; criança com uma cromossomopatia estrutural equilibrada; ou um feto com uma anomalia não-equilibrada. (2, 49) Neste caso, haverá abortamento espontâneo ou nascimento de uma criança com múltiplas malformações congénitas e/ou deficiência mental (5-10%). Quanto maior for o desequilíbrio cromossômico, maior será a probabilidade de abortamento. (49)

Uma translocação envolvendo cromossomas homólogos exclui a possibilidade de descendência normal. (2)

Outras alterações estruturais geneticamente equilibradas, como as inversões (paracêntricas e pericêntricas), também acarretam um risco maior de perda gestacional, (17, 48) estando também implicadas no AR. (2) Os portadores heterozigóticos de inversões são fenotipicamente normais, mas, como a ordem dos genes é invertida, o *crossing-over* produz

<sup>4</sup> Fusão cêntrica de dois cromossomas acrocêntricos

<sup>5</sup> Troca recíproca de dois segmentos terminais entre diferentes cromossomas

gâmetas não-equilibrados. (2) O risco de descendência anormal depende do tamanho e da localização da inversão, e se o portador é feminino ou masculino. (2) Inversões de pequenas porções do cromossoma levam a duplicações ou deficiências amplas, e são geralmente letais. Paradoxalmente, grandes inversões são mais prováveis de serem compatíveis com a vida. (2) O risco de descendência anormal é ligeiramente maior se o portador heterozigótico de inversão pericêntrica é feminino. As recombinações paracêntricas (sem envolvimento do centrômero) são universalmente letais. (2)

A mulher é duas vezes mais afetada comparativamente ao companheiro, (58) demonstrando uma incidência elevada de aneuploidias envolvendo o cromossoma X. (56) Isto pode ser explicado pela alta incidência de esterilidade em homens com anomalias cromossômicas equilibradas implicando bloqueio meiótico da espermatogênese; a ovogênese é preservada havendo produção de gâmetas com risco elevado de anomalias cromossômicas não-equilibradas. (56) Também a incidência de translocações é superior nas mulheres. (2, 47, 59)

O prognóstico (relativo a uma gravidez seguinte) é menos favorável nos casais com alterações cariotípicas em um dos progenitores. (17)

As anomalias cromossômicas devem ser parte integrante do estudo diagnóstico de AR, de modo a permitir um melhor aconselhamento genético (AG), especialmente em casais jovens com história familiar de abortamento, síndrome malformativa e/ou atraso mental, em que a probabilidade de detecção de cromossomopatia estrutural é significativamente maior. (56)

A correlação entre o estado portador e a citogenética do produto de abortamento é crítica na antecipação do resultado gestacional. (55) Todavia há quem defenda que o cariótipo dos progenitores não é um fator particularmente preditivo de abortamento seguinte, (17) não permitindo o diagnóstico da causa, nem indicando um tratamento. (53)

#### ↳ Cariótipo de Progenitores, no Abortamento de Repetição:

Procura essencialmente por translocações equilibradas e inversões. (53). O uso do cariótipo parental deve ser seletivo, privilegiando casais com fatores de risco elevado para estado portador, (57) como idade materna baixa aquando do segundo abortamento, história de três ou mais abortamentos, história de dois ou mais abortamentos num irmão ou irmã de qualquer um dos progenitores, e história de dois ou mais abortamentos nos pais de um ou outro progenitor. (17, 26, 57)

Recomendado após dois ou três abortamentos, sobretudo na presença de uma alteração cromossômica não-equilibrada no feto. (49)

As aberrações cariotípicas parentais podem ser transmitidas para o embrião numa forma não-equilibrada, explicando o abortamento. (53) Segundo relatos, a maioria dos Produtos de Abortamento (PA) são cromossomicamente normais, enquanto uma minoria apresenta translocações não-equilibradas. (53)

Geralmente, é o último teste a ser realizado e apenas se observarem resultados negativos com os exames prévios. (60)

O risco de abortamento em casais portadores de translocação recíproca é aproximadamente 25-50%; se translocação robertsoniana, situa-se nos 25%. (56)

Na consulta de AG, os casais são informados do risco de recorrência, com discussão das hipóteses terapêuticas possíveis, sendo-lhes oferecida a possibilidade de Diagnóstico Pré-Natal (DPN), numa futura gravidez. (49, 56)

→ Aneuploidia recorrente:

A recorrência de aneuploidia embrionária – não obstante a normalidade dos cariótipos parentais – pode resultar em AR, sendo que um primeiro abortamento aneuploide apresenta probabilidade de 50-70% de recorrência no futuro. (2)

Vários autores verificaram uma tendência prognóstica favorável para a maioria das pacientes com abortamento aneuploide, em particular após abortamento trissômico, encarando a aneuploidia como um evento esporádico, (53) e estando o RR levemente incrementado aquando de uma anomalia numérica não-trissômica. (49)

Apesar de uma elevada taxa de aneuploidia em mulheres com AR, constata-se que o rastreio pré-implantatório de aneuploidia e substituição por embriões cromossomicamente normais não incrementa a taxa de nascidos-vivos. (5, 48, 50)

→ Malformações estruturais:

A maioria dos abortamentos recorrentes ocorre no 1º trimestre; nesta fase o embrião é demasiado pequeno para ser classificado como normal ou anormal na ecografia. (53) Defeitos estruturais fetais, como DTN, podem ser detetados no 1º trimestre, indicando assim a causa da perda gestacional. (10) Chegado ao 2º trimestre, a ecografia consegue captar malformações estruturais geralmente associadas a um cariótipo normal. (53)

Em suma, a estrutura e o cariótipo do embrião determinam a compatibilidade com a vida. (53)

### **Idade materna (IM)**

Segundo relatos, a prevalência de abortamento em mulheres com menos de 35 anos é 14%, em oposição a 40% em mulheres com mais de 40 anos. (16, 52)

A associação entre a idade materna crescente e a incidência de abortamentos é o reflexo do risco aumentado de algumas anomalias cromossômicas fetais e DTN, com a IM mais avançada. (3, 4, 16)

A IM constitui um fator de risco conhecido de abortamento esporádico, e provável de PGR. (52)

A aneuploidia embrionária é a causa primária de abortamento esporádico relacionado com a idade, (51) constituindo a condição mais frequente em pacientes com três ou mais abortamentos após os 35 anos. (52) Pouco se sabe acerca dos mecanismos responsáveis. (50, 52)

As mulheres têm um *pool* limitado de oócitos. A IM crescente resulta na escassez relativa de oócitos em estádios adequados de maturação, (47, 50) e também no aumento de erros meióticos ao nível do desenvolvimento oocitário. (16, 52, 56) A ocorrência de trissomias aumenta com a IM. (27)

Mulheres com menos de 36 anos de idade afetadas por PGR apresentam uma maior incidência de abortamentos normais do ponto de vista citogenético. (26, 27)

As mulheres propensas a abortamentos têm um maior número de gestações, ocorrendo estas a uma idade mais avançada em relação ao grupo de mulheres com história obstétrica favorável. (14, 61)

Pacientes sem causa óbvia devem ser encorajadas a continuar a tentar uma gravidez, pois, mesmo em idade avançada, apresentam elevada taxa gestacional subsequente. (52)

### **Abortamentos de repetição inexplicáveis/idiopáticos**

Não obstante uma investigação aprofundada, a causa de abortamento em cerca de 50% dos casos permanece desconhecida. (26, 29, 41)

Podem ser descritos dois tipos de AR inexplicáveis:

- Tipo I – ocorre pelo acaso em mulheres sem patologias subjacentes, tendo bom prognóstico;
- Tipo II – devido a patologia não identificada por exames médicos; apresentam pior prognóstico. (12)

Vários aspetos clínicos ajudam na diferenciação entre os dois tipos de AR, como o número de abortos prévios (quanto maior este número, menor a probabilidade de que o AR seja devido ao acaso) e o cariótipo do PC (se for normal, é menos provável que o AR ocorra devido ao acaso). (12) Pelo contrário, os AR tipo I estão mais frequentemente associados a aneuploidia fetal esporádica, e a um cariótipo anormal do PC. (12)

Em pacientes com perda gestacional recorrente inexplicável, tem sido proposta a hipótese de alguns polimorfismos genéticos/variantes génicas – afetando a recetividade endometrial, a implantação, a coagulação, a fibrinólise, e a angiogénese e vasoconstrição – atuarem como fatores de suscetibilidade para perda gestacional. (27, 28, 31, 41, 44, 62) Correspondem a áreas do genoma onde um único nucleótido, na sequência de DNA, varia dentro de uma população. (63)

## Distúrbios da Coagulação

### ▪ **Trombofilias hereditárias (TH)** – exemplos:

- Mutação Fator V Leiden;
- Mutação Gene da Protrombina (Fator II) (G20210A);
- Mutação heterozigótica Gene Metilenotetrahidrofolato Redutase (MTHFR): C677T e A1298C.

O estado hipercoagulável inerente à gravidez constitui uma forma de prevenção de hemorragia excessiva durante o parto, sendo caracterizado por um nível crescente de fatores da coagulação (fatores VII, VIII, IX, X, XII, fibrinogénio, e fator de *von Willebrand*), diminuição de inibidores da coagulação (proteína C e proteína S) e atividade fibrinolítica reduzida. (2, 64, 65)

As trombofilias, nomeadamente hereditárias, foram demonstradas como causadoras de perdas gestacionais recorrentes, (34, 64, 66) diagnosticadas em 50 a 65% das mulheres com história de AR inexplicável. (65) Podem ser devidas à deficiência em inibidores da coagulação, ou a polimorfismos/mutações de genes trombofílicos, predispondo ao desenvolvimento de microtrombos na interface feto-materna, redução da perfusão do espaço intervilositário, falha da implantação e, consequentemente, PGR. (27, 65, 67-71)

É um diagnóstico a considerar sobretudo quando existem antecedentes pessoais e/ou familiares de distúrbios trombóticos, como TEV. (65)

O Fator V Leiden – o fator hereditário de risco trombótico mais comum na PGR (65) – provoca trombose pela resistência do Fator V à inativação pela Proteína C ativada, levando à produção aumentada de trombina, e hipercoagulação. (65, 69, 72, 73)

A mutação do gene da protrombina (G20210A) intensifica a acumulação de protrombina e a síntese de trombina, predispondo a eventos tromboembólicos venosos. (72)

As mutações do Fator V Leiden e da protrombina G20210A constituem, de longe, as causas mais comuns de Trombofilia Hereditária (TH), (2) prejudicando a implantação embrionária. (34) Segundo alguns autores, estas mutações elevam o risco de perda gestacional em mulheres caucasianas, (32) embora a associação da última mutação (com AR) seja alvo de resultados contraditórios. (68, 72) Sottillotta et. al. (2006) constataram uma prevalência superior (embora não significativa) destas mutações no grupo de mulheres afetadas por PGR, comparativamente a controlos, requerendo-se ainda estudos mais abrangentes, de forma a clarificar o risco conferido por estas mutações. (73)

Elevados níveis de homocisteína parecem predispor a AR. (26, 74) Uma das causas genéticas frequentes de hiper-homocisteinemia são os polimorfismos/mutações do gene MTHFR. (26, 38, 74) Os dois polimorfismos mais comuns da MTHFR – nas posições 677C/T e

1298A/C – resultam em atividade reduzida da enzima<sup>6</sup> codificada, em hiper-homocisteinemia e num estado tendencialmente trombótico. (26, 68, 69) Existem relatos de uma elevada frequência da mutação heterozigótica de MTHFR nas mulheres com AR, em contraposição a uma frequência inferior em controles; (70) tendo sido indicada uma relação causal entre o polimorfismo C677T e a PGR, particularmente em fase precoce. (65, 74)

Os estudos até agora efetuados são contraditórios relativamente ao papel das TH na patogénese do abortamento recorrente. (32, 70)

A maioria dos estudos apoia a hipótese de um risco superior conferido pela presença de certos polimorfismos (fatores V Leiden, FV 5279A/G, FXIII 614A/T, e MTHFR 1298 A/C) em mulheres com AR. (69) Outros autores não encontram em nenhuma das variantes estudadas [Fator V Leiden; mutação da protrombina; MTHFR C677T e A1298C; inibidor do ativador do plasminogénio tipo 1 (PAI-1) e Fator XIII G103T (V34L)] correlações com a ocorrência de abortamentos espontâneos recorrentes. (67, 70)

São necessários estudos mais vastos que justifiquem não só a pesquisa de trombofilias hereditárias em casais com AR e cariótipo normal, na prática clínica de rotina, (26) mas também que estabeleçam a eficácia da anticoagulação nestes casos. (28, 73)

A anticoagulação profilática deve ser limitada a mulheres selecionadas, com trombofilia e perda fetal recorrente, perante um distúrbio específico (como TEV) e após uma discussão informada dos riscos. (2, 70) Há, segundo alguns, evidência suficiente de incremento das taxas de nascimento posteriores. (66, 73)

### Atividade Fibrinolítica

O Inibidor do Ativador do Plasminogénio tipo 1 (PAI-1) é considerado um regulador do processo fibrinolítico. (28, 64) Uma fibrinólise anormal participa na patogenia da trombose arterial e venosa. (28)

#### ▪ **Gene do Inibidor do Ativador do Plasminogénio tipo 1 (PAI-1)**

Os ativadores do plasminogénio convertem plasminogénio em plasmina. (64)

Um dos polimorfismos relacionados com défice na estabilização do coágulo de fibrina, e com a fibrinólise, é a inserção/deleção (I/D) do nucleótido 675 acima da região promotora do PAI-1, que produz dois alelos contendo quatro ou cinco nucleótidos de guanosina (PAI-1 – 675 4G/5G), resultando numa deposição desequilibrada de fibrina e risco subsequente de trombose. (65, 69)

Os indivíduos homozigóticos para o alelo 4G do gene PAI possuem as mais elevadas concentrações plasmáticas de PAI-1, reportando-se uma associação deste genótipo com PGR,

---

<sup>6</sup> Converte homocisteína em metionina.

sobretudo na presença de TEV. (65) Os níveis plasmáticos de PAI-1 são, por sua vez, incrementados pela angiotensina II. (64)

#### ▪ **Gene da Enzima Conversora da Angiotensina (ECA)**

A Enzima Conversora da Angiotensina (ECA) participa na via fibrinolítica, regulando as concentrações de PAI-1. (28, 62)

Um polimorfismo do gene ECA, consistindo na inserção ou deleção (I/D) de um fragmento no intrão 16, produz três genótipos: I/I, I/D e D/D. A presença do alelo D, ou o genótipo D/D, associa-se a atividades plasmática e tecidual elevadas de ECA, reforçando a produção de angiotensina II (com níveis elevados de PAI-1 circulante), o que resulta em fibrinólise diminuída e aumento do risco de eventos trombóticos. (62, 64)

A detecção deste polimorfismo poderá constituir um novo modo de diminuir a incidência da perda gestacional recorrente. (62)

Ambas as variantes PAI-4G e ECA D podem comprometer a formação da placenta e a invasão trofoblástica, pela expressão aumentada de PAI-1 e, conseqüentemente, redução da atividade fibrinolítica. (64)

Os seus papéis no AR idiopático não são totalmente conclusivos. (64)

Diversos agentes, incluindo glucocorticoides, citocinas, lipopolissacarídeos e insulina, modulam a síntese de PAI-1 no local de transcrição. (28)

### Implantação e Desenvolvimento Embrionário

#### ▪ **Gene ALPP – codificador da Fosfatase Alcalina Placentária (FAP)**

A FAP – codificada pelo gene ALPP – é sintetizada ao nível do tecido placentar pela 7ª semana de gestação, estando envolvida na proliferação celular. (11)

Das variantes do gene identificadas, duas (ALPP 1338 e ALPP 3315) foram apontadas como protetoras relativamente a abortamentos, em oposição a P209R e E429G, que conferiam maior suscetibilidade, tendo-se demonstrado um impacto significativo destes polimorfismos sobre o abortamento recorrente primário. (11) Estas variantes podem constituir ferramentas preditivas do sucesso da implantação; sendo, para tal, necessária a genotipagem de ALPP. (11)

#### ▪ **Gene do Recetor das Hormonas Sexuais (estrogénio – ER; progesterona – PR)**

A progesterona desempenha uma função crítica na implantação do embrião, e na manutenção da placenta no início da gestação. (44) As variantes génicas de Recetores de Progesterona (PROGINS) podem causar uma alteração na função biológica dos PR's e na suscetibilidade individual para desenvolver perdas gestacionais. (44)

O estrogénio modula a reprodução feminina, exercendo efeitos através de dois recetores: ER- $\alpha$  e ER- $\beta$  (44) Os polimorfismos mais estudados pela possível associação com AR são PuvII (T>C) e XbaI (T>G), e *B domain*. (44)

O androgénio é necessário para a funcionalidade completa do desenvolvimento folicular e ovulação. O recetor de androgénio, codificado no cromossoma X, contém uma sequência de repetição CAG altamente polimórfica. (44, 75) A expansão da repetição CAG no gene do RA leva a uma maior inativação. (44) É possível que polimorfismos no gene do RA (particularmente ao nível da metilação das repetições CAG) possam afetar a sua função normal, associando-se a abortos espontâneos recorrentes. (44, 75)

Verifica-se que mulheres portadoras de polimorfismos em RE e RP não apresentam maior risco de AR. (44, 76) Já a prevalência de IEX encontra-se elevada entre as pacientes com AR, comparativamente aos controlos, demonstrando-se que esta alteração confere um risco superior de AR. (44, 75)

No entanto, a intervenção destes recetores poderá ser o resultado da complexa interação entre fatores genéticos, suscetibilidade genética a fatores ambientais, ou descompensação endócrina. (44)

### Angiogénese e Vasoconstrição

O fluxo sanguíneo subendometrial é considerado um marcador de recetividade endometrial. (24)

Entre os fatores angiogénicos e vasoativos – envolvidos na adesão das plaquetas às células endoteliais, na indução de relaxamento do músculo liso (tornando o endométrio recetivo) e na adesão blastocisto-endométrio – destacam-se, respetivamente, a PECAM-1 (*Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule*), a eNOS (óxido nítrico sintase endotelial) e a adrenomedulina. (24)

A influência destes fatores na redução do fluxo sanguíneo subendometrial durante a janela de implantação, em mulheres com AR idiopáticos, não se encontra, para já, confirmada. (24)

- Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) e o seu recetor KDR

O VEGF e os seus recetores (VEGFR, VEGFR2/KDR) desempenham um papel essencial no desenvolvimento vascular a nível fetal e placentário, e nos processos de implantação e desenvolvimento embrionários. O gene VEGF é altamente polimórfico. Está descrita uma expressão diminuída de VEGF no trofoblasto de placentas, em abortamentos recorrentes, existindo diversos polimorfismos deste gene a afetar a expressão e atividade da proteína. (30, 31) Os estudos de associação permanecem, contudo, inconclusivos. (76)

Alguns polimorfismos do gene KDR podem alterar a atividade das vias de sinalização do VEGF, conferindo possivelmente suscetibilidade para o abortamento recorrente idiopático. (30)



- P53

A proteína p53 (supressor tumoral) também intervém na angiogénese e no desenvolvimento embrionário. A mutação de p53 induz angiogénese através do fator induzido por hipóxia 1 (HIF-1) e da via do VEGF, de modo que a sobre- ou sub- expressão inadequadas de p53 conduzirão à morte do embrião. (31) Um polimorfismo comum de p53 ao nível do codão 72 (codificando arginina ou prolina) prejudica a invasão trofoblástica, com manifestação numa fase precoce da gestação. (31)

- Óxido Nítrico Sintase endotelial (eNOS)

A Óxido Nítrico Sintase endotelial (eNOS) é necessária para a produção de Óxido Nítrico (NO). A produção reduzida de NO afeta a perfusão placentar, comprometendo o fornecimento de oxigénio e nutrientes ao feto. Dois polimorfismos (VNTR – B/A e Glu298Asp) podem influenciar o nível plasmático de NO. (31)

Os resultados de uma meta-análise de 2011 mostraram associações significativas e consistentes – porém diferentes – entre os polimorfismos de VEGF, p53 e eNOS (-1154G>A; codão 72; Glu298Asp, respetivamente) e a ocorrência de AR idiopático, demonstrando o seu contributo conjunto para esta síndrome. (31)

Constata-se que a base molecular dos AR idiopáticos é pouco compreendida, carecendo-se de genes marcadores diagnósticos passíveis de aplicação prática. (77)

## ABORDAGEM DIAGNÓSTICA GERAL

A investigação da causa da perda gestacional é sempre relevante. Por um lado, a determinação da etiologia permite aos casais lidar emocionalmente com a perda; por outro, permite estabelecer o seu risco de recorrência. (15, 42)

### Risco de Recorrência

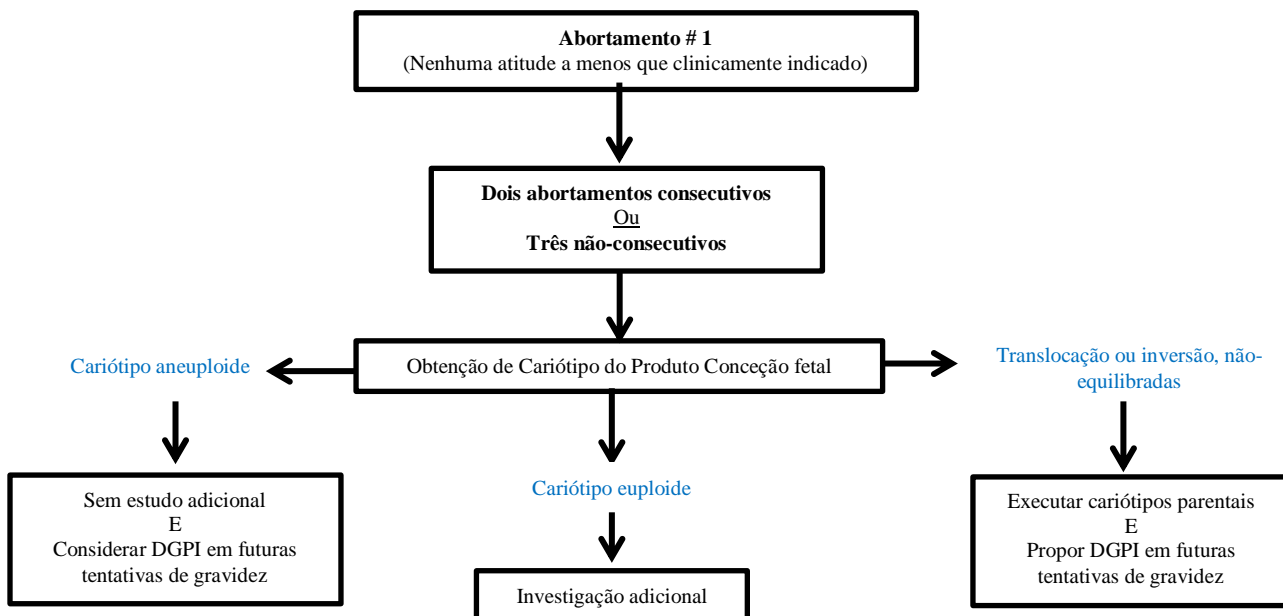
É influenciado por vários fatores: idade materna; cariótipos fetal e parentais; idade gestacional em que as perdas anteriores ocorreram (o AR tende a ocorrer num período gestacional semelhante). (42, 60)

### Início da investigação:

A maioria dos autores defende o início de avaliação e eventual tratamento do AR após dois ou três abortamentos consecutivos. (60)

Nos casais com PGR, é importante a pesquisa de indícios pessoais e familiares de trombose e patologia genética, nomeadamente trombofilias hereditárias; antecedentes médicos e cirúrgicos; história ginecológica; história obstétrica; análises patológicas de abortamentos anteriores; qualquer evidência de infeções, ou doenças agudas ou crónicas; dados familiares relativos a eventuais perdas gestacionais. (10, 42, 60) No exame físico, especial atenção é dada aos sinais de endocrinopatia (como exemplo, hirsutismo e galactorreia); anormalidades dos órgãos pélvicos (como malformações uterinas); e índice de massa corporal (IMC). (10, 60)

Longe de ser consensual, (15) Brezina & Kutteh (2014) sugerem o seguinte algoritmo de avaliação inicial: (42)



**Figura 1. Algoritmo de avaliação/abordagem diagnóstica**

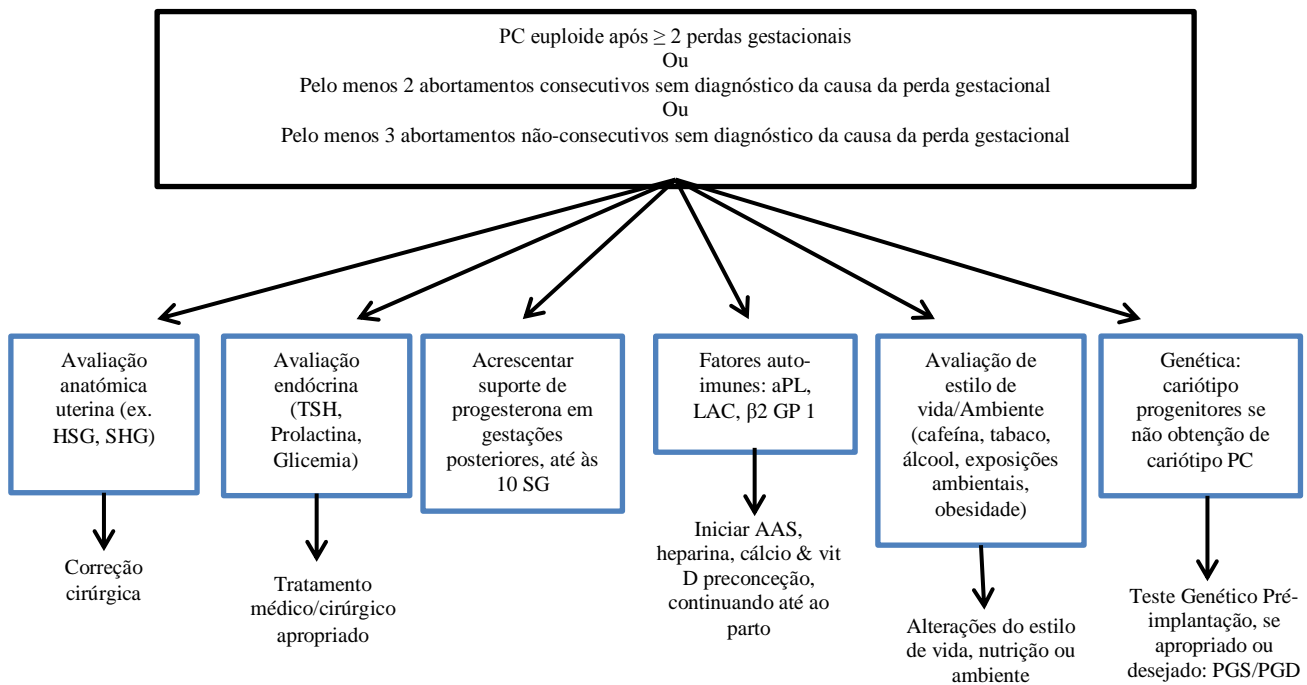
Segundo este algoritmo, não está indicada nenhuma ação diagnóstica/terapêutica após um único abortamento. (42)

### Avaliação do cariótipo

→ Produto de abortamento (PA):

O cariótipo fetal deve ser estudado na sequência de dois abortamentos consecutivos, ou de três não seguidos. (42)

O resultado desta avaliação indicará a necessidade de investigações adicionais. (42) Se o PA for aneuploide, não estão recomendados avaliações ou tratamentos adicionais: a causa fica identificada (embora todos os abortamentos precoces no futuro devam ser submetidos a avaliação do cariótipo). (42) Se identificadas translocações, ou inversão cromossômicas, não-equilibradas no feto, impõe-se o estudo dos cariótipos parentais. (42) Se o PA for cromossomicamente normal (euploide), dever-se-á efetuar uma avaliação materna aprofundada, esquematizada do seguinte modo: (37, 42)



**Figura 2. Avaliação materna na sequência de várias perdas gestacionais**

Portanto, o resultado normal do cariótipo sugere – mas não comprova – a existência de um fator ambiental como causa da perda gestacional, enquanto um cariótipo anormal (com aneuploidia) é usualmente uma explicação suficiente para a inviabilidade da gestação. (60)

### Aplicação clínica do cariótipo de abortamentos espontâneos:

O conhecimento do cariótipo do PA pode fornecer informação diagnóstica e prognóstica relevante, (55) relativamente aos resultados de gestações subsequentes. (27, 37, 53) No entanto, este exame não é aplicado pela generalidade das clínicas (18, 49) pelo facto de – em mulheres que tiveram apenas um abortamento – o RR encontrar-se apenas ligeiramente elevado (16%) quando comparado ao risco inicial de todas as mulheres (10-15%). (49)

## OPÇÕES TERAPÊUTICAS

---

Idealmente, o tratamento do AR deverá ser dirigido à causa responsável. (41)

Muitos tratamentos requerem uma avaliação cuidadosa do seu valor terapêutico e de possíveis riscos. (14) Comparativamente a outros distúrbios reprodutivos existe pouco consenso acerca dos métodos de investigação e tratamento efetivos na PGR. (21)

A introdução de técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA) tem melhorado substancialmente as opções de tratamento para casais inférteis, todavia as evidências – em casos de perdas gestacionais recorrentes – não são tão claras. (14)

De entre as técnicas de PMA contempladas na legislação portuguesa, destaca-se o Diagnóstico Genético Pré-implantação (DGPI). (78)

O DGPI representa o conjunto de técnicas usadas para deteção de uma alteração genética específica (génica ou cromossómica) num embrião, ou num ovócito, antes da transferência para o útero, na presença de aberrações cromossómicas parentais e em situações de alto risco de transmissão de uma doença genética à descendência. (51, 55, 78, 79) Tem sido utilizado na identificação de anomalias cromossómicas em casais sob risco de aneuploidia (pela idade materna) ou com alterações cromossómicas estruturais, como translocações e inversões. (80)

É possível também identificar aneuploidias de novo em embriões de casais com cariótipo normal, de modo a permitir a seleção apenas de embriões citogeneticamente normais – Rastreio Pré-implantação de Aneuploidias (PGS); (79) é aplicado primariamente em mulheres  $\geq 35$  anos, com perdas gestacionais recorrentes ou tentativas anteriores fracassadas de Fertilização *in Vitro* (FIV). (45, 53, 81)

Estes testes pré-implantatórios implicam a realização de ciclo de FIV com injeção intracitoplasmática de espermatozoides, seguida de biópsia celular. (5, 33, 79)

Após a obtenção das células para análise, podem utilizar-se dois tipos de abordagens para estudar a doença genética em causa: a *polymerase chain reaction* (PCR), técnica de genética molecular; e *fluorescence in situ hybridization* (FISH) – técnica de análise citogenética. (33, 79, 82)

### Diagnóstico Pré-natal (DPN) vs. Diagnóstico Genético Pré-implantação (DGPI)

No passado, apenas o DPN – através da biópsia de vilosidades coriônicas ou de amniocentese – era empregue para identificar translocações cromossómicas não-equilibradas, (48, 80) permitindo a terminação da gestação no caso de cariótipo fetal não-equilibrado. (48)

Atualmente, o DGPI possibilita a identificação de embriões em equilíbrio cromossómico, previamente à transferência para a cavidade uterina, (80, 83) evitando a interrupção da gravidez. (42, 48, 51, 59, 63, 80) Corresponde à técnica diagnóstica passível de execução mais precoce no decurso do desenvolvimento embrionário. (82)

### **Limitações / Dúvidas**

O DGPI é um exame de utilização aceite na generalidade, (42) melhorando potencialmente as taxas de natalidade em casais com AR portadores de cromossomopatias estruturais. (48) Por outro lado, a aplicação de PGS, na deteção de aneuploidias nos casos com IM avançada, não está demonstrada como benéfica. (42, 45, 48, 79, 84)

Uma revisão sistemática de 2011 considera haver necessidade de mais estudos para comparação entre DGPI e conceção natural, neste grupo de casais. (48)

Sampson et.al. (2004) verificaram que do total de embriões obtidos de casais submetidos ao DGPI, a maioria era afetada por translocações não-equilibradas, (80) obtendo-se escassos embriões adequados para transferência. (80)

A abordagem do clínico apresenta quatro finalidades:

- 1) Identificar mulheres que apresentam um fator responsável para as perdas gestacionais;
- 2) Conduzir ECR prospetivos, de modo a determinar o melhor tratamento;
- 3) Evitar a submissão de mulheres sem causa reconhecida de abortamento a tratamentos sem benefício comprovado;
- 4) Identificar abortamentos idiopáticos – este grupo tem elevada probabilidade de prognóstico favorável apenas com apoio psicológico. (4, 12, 37, 50, 66)

## PROGNÓSTICO

---

O prognóstico gestacional assenta na ocorrência de vários eventos precoces – decidualização, implantação e estabelecimento de circulação materno-fetal – de forma adequada. (6, 75)

Observa-se que o risco de abortamento seguinte – após uma série de perdas gestacionais repetidas – é significativamente superior nas pacientes com AR primário. (4, 22) Este grupo será também mais propenso a complicações obstétricas e neonatais, incluindo parto pré-termo, e *abruptio* placenta. (4, 22, 61, 85) O prognóstico é, portanto, mais favorável no grupo de mulheres que têm pelo menos um nado-vivo prévio. (2)

A idade materna e o número de abortamentos prévios constituem os dois determinantes epidemiológicos major de prognóstico, em mulheres com antecedentes de abortamento. (4, 14, 47)

Constata-se que os cuidados psicológicos de suporte apresentam efeitos benéficos em mulheres afetadas por AR idiopáticos. (12, 22, 23, 47, 55) De entre estes cuidados, podem se destacar a realização de um plano de vigilância para o 1º trimestre com um médico conhecedor do historial obstétrico; a execução de ecografias periódicas e/ou num contexto sintomático; e a demonstração de capacidades de escuta, compreensão e empatia do médico. (23, 86)

## CONCLUSÕES

---

A Perda Gestacional Recorrente inexplicável constitui uma condição difícil e frustrante tanto para o casal como para o seu médico. Em cerca de metade dos casos, não haverá identificação da causa subjacente.

É requerida uma vigilância cuidadosa das gestações num contexto de várias perdas gestacionais, de modo a detetar precocemente possíveis complicações.

A aplicação de práticas médicas baseadas em evidências – ao nível da investigação e tratamento de mulheres com AR – já se iniciou e necessita agora de se estabelecer firmemente. No AR, é requerida a integração da informação proveniente de diversas disciplinas como genética e obstetrícia/ginecologia de forma a validar a investigação.

Esta condição constitui o exemplo clássico de um distúrbio complexo caracterizado por heterogeneidade genética, no qual o fenótipo de doença é causado por diversas variantes num único gene ou numa multiplicidade de genes. Nesta medida, é necessário diversificar as abordagens na investigação dos vários fatores causais, devendo passar pelo aperfeiçoamento da análise citogenética do material de abortamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Caetano MR, Couto E, Passini R, Jr., Simoni RZ, Barini R. Gestational prognostic factors in women with recurrent spontaneous abortion. *Sao Paulo medical journal = Revista paulista de medicina*. 2006;124(4):181-5.
2. Porter TF, Scott JR. Evidence-based care of recurrent miscarriage. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2005;19(1):85-101.
3. Jauniaux E, Burton GJ. Pathophysiology of histological changes in early pregnancy loss. *Placenta*. 2005;26(2-3):114-23.
4. Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. *Bailliere's best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2000;14(5):839-54.
5. Platteau P, Staessen C, Michiels A, Van Steirteghem A, Liebaers I, Devroey P. Which patients with recurrent implantation failure after IVF benefit from PGD for aneuploidy screening? *Reproductive biomedicine online*. 2006;12(3):334-9.
6. Teklenburg G, Salker M, Heijnen C, Macklon NS, Brosens JJ. The molecular basis of recurrent pregnancy loss: impaired natural embryo selection. *Molecular human reproduction*. 2010;16:886-95.
7. Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med*. 2013;11:154.
8. Bottomley C, Bourne T. Diagnosing miscarriage. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2009;23(4):463-77.
9. Hure AJ, Powers JR, Mishra GD, Herbert DL, Byles JE, Loxton D. Miscarriage, preterm delivery, and stillbirth: large variations in rates within a cohort of Australian women. *PLoS One*. 2012;7(5):e37109.
10. Quenby S. Recurrent miscarriage. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*. 2010;20(10):306-10.
11. Vatin M, Bouvier S, Bellazi L, Montagutelli X, Laissue P, Ziyyat A, et al. Polymorphisms of human placental alkaline phosphatase are associated with in vitro fertilization success and recurrent pregnancy loss. *The American journal of pathology*. 2014;184(2):362-8.
12. Saravelos SH, Li TC. Unexplained recurrent miscarriage: how can we explain it? *Human reproduction*. 2012;27(7):1882-6.
13. Van den Berg MM, Vissenberg R, Goddijn M. Recurrent miscarriage clinics. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*. 2014;41(1):145-55.
14. Christiansen OB, Nybo Andersen AM, Bosch E, Daya S, Delves PJ, Hviid TV, et al. Evidence-based investigations and treatments of recurrent pregnancy loss. *Fertility and sterility*. 2005;83(4):821-39.



15. Silver RM. Fetal death. *Obstetrics and gynecology*. 2007;109(1):153-67.
16. Garcia-Enguidanos A, Calle ME, Valero J, Luna S, Dominguez-Rojas V. Risk factors in miscarriage: a review. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2002;102(2):111-9.
17. Alijotas-Reig J, Garrido-Gimenez C. Current concepts and new trends in the diagnosis and management of recurrent miscarriage. *Obstetrical & gynecological survey*. 2013;68(6):445-66.
18. Dawood F, Quenby S, Farquharson R. Recurrent miscarriage: an overview. *Reviews in Gynaecological Practice*. 2003;3(1):46-50.
19. Gaufberg SV. Early Pregnancy Loss in Emergency Medicine 2013 [cited 2013 October]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/795085-overview>.
20. Puscheck EE. Early Pregnancy Loss Medscape2013 [22/12/2013 ]. Available from: <http://reference.medscape.com/article/266317-overview#a0101>.
21. Christiansen OB. Research Methodology in Recurrent Pregnancy Loss. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*. 2014;41(1):19-39.
22. Shapira E, Ratzon R, Shoham-Vardi I, Serjienko R, Mazor M, Bashiri A. Primary vs. secondary recurrent pregnancy loss--epidemiological characteristics, etiology, and next pregnancy outcome. *J Perinat Med*. 2012;40(4):389-96.
23. Saravelos SH, Regan L. Unexplained recurrent pregnancy loss. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*. 2014;41(1):157-66.
24. Banerjee P, Ghosh S, Dutta M, Subramani E, Khalpada J, Roychoudhury S, et al. Identification of key contributory factors responsible for vascular dysfunction in idiopathic recurrent spontaneous miscarriage. *PLoS One*. 2013;8(11):e80940.
25. Dutta UR, Rajitha P, Pidugu VK, Dalal AB. Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in southern region of India: report and review. *J Assist Reprod Genet*. 2011;28(2):145-9.
26. Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Human reproduction*. 2006;21(9):2216-22.
27. Qublan HS. Habitual abortion: causes, diagnosis, and treatment. *Reviews in Gynaecological Practice*. 2003;3(2):75-80.
28. Baek KH, Lee EJ, Kim YS. Recurrent pregnancy loss: the key potential mechanisms. *Trends in molecular medicine*. 2007;13(7):310-7.
29. Beever CL, Stephenson MD, Penaherrera MS, Jiang RH, Kalousek DK, Hayden M, et al. Skewed X-chromosome inactivation is associated with trisomy in women ascertained on the basis of recurrent spontaneous abortion or chromosomally abnormal pregnancies. *American journal of human genetics*. 2003;72(2):399-407.

30. Su M-T, Lin S-H, Lee I-W, Chen Y-C, Kuo P-L. Association of polymorphisms/haplotypes of the genes encoding vascular endothelial growth factor and its KDR receptor with recurrent pregnancy loss. *Human reproduction*. 2011;758-64.
31. Su MT, Lin SH, Chen YC. Genetic association studies of angiogenesis- and vasoconstriction-related genes in women with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2011;17(6):803-12.
32. Glueck CJ, Gogenini S, Munjal J, Tracy T, Pranikoff J, Wang P. Factor V Leiden mutation: a treatable etiology for sporadic and recurrent pregnancy loss. *Fertility and sterility*. 2008;89(2):410-6.
33. Swanson A, Strawn E, Lau E, Bick D. Preimplantation genetic diagnosis: technology and clinical applications. *WMJ : official publication of the State Medical Society of Wisconsin*. 2007;106(3):145-51.
34. Mierla D, Szmál C, Neagos D, Cretu R, Stoian V, Jardan D. Association of Prothrombin (A20210G) and Factor V Leiden (A506G) with Recurrent Pregnancy Loss. *Maedica (Buchar)*. 2012;7(3):222-6.
35. Toth B, Jeschke U, Rogenhofer N, Scholz C, Wurfel W, Thaler CJ, et al. Recurrent miscarriage: current concepts in diagnosis and treatment. *J Reprod Immunol*. 2010;85(1):25-32.
36. Kiwi R. Recurrent pregnancy loss: evaluation and discussion of the causes and their management. *Cleveland Clinic journal of medicine*. 2006;73(10):913-21.
37. Hogge WA, Byrnes AL, Lanasa MC, Surti U. The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;189(2):397-400; discussion -2.
38. Cao Y, Xu J, Zhang Z, Huang X, Zhang A, Wang J, et al. Association study between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Gene*. 2013;514(2):105-11.
39. Kujovich JL. Thrombophilia and pregnancy complications. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004;191(2):412-24.
40. Saunders RD, Nakajima ST, Rai SN, Pan J, Gercel-Taylor C, Taylor DD. Alterations in antibody subclass immune reactivity to trophoblast-derived fetal fibronectin and  $\alpha$ 2-macroglobulin in women with recurrent pregnancy loss. *American journal of reproductive immunology*. 2012;68(5):438-49.
41. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. *Hum Reprod Update*. 2002;8(5):463-81.
42. Brezina PR, Kutteh WH. Classic and Cutting-Edge Strategies for the Management of Early Pregnancy Loss. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*. 2014;41(1):1-18.
43. Li TC. Recurrent miscarriage: principles of management. *Human reproduction*. 1998;13(2):478-82.

44. Su M-T, Lin S-H, Chen Y-C. Association of sex hormone receptor gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility*. 2011;96:1435-44.
45. Fauser BC. Preimplantation genetic screening: the end of an affair? *Human reproduction*. 2008;23(12):2622-5.
46. Gnainsky Y, Granot I, Aldo PB, Barash A, Or Y, Schechtman E, et al. Local injury of the endometrium induces an inflammatory response that promotes successful implantation. *Fertility and sterility*. 2010;94(6):2030-6.
47. Horne AW, Alexander CI. Recurrent miscarriage. *The journal of family planning and reproductive health care / Faculty of Family Planning & Reproductive Health Care, Royal College of Obstetricians & Gynaecologists*. 2005;31(2):103-7.
48. Franssen MT, Musters AM, van der Veen F, Repping S, Leschot NJ, Bossuyt PM, et al. Reproductive outcome after PGD in couples with recurrent miscarriage carrying a structural chromosome abnormality: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2011;17(4):467-75.
49. Goddijn M, Leschot NJ. Genetic aspects of miscarriage. *Bailliere's best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2000;14(5):855-65.
50. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *The Lancet*. 2006;368(9535):601-11.
51. Pagidas K, Ying Y, Keefe D. Predictive value of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in repeated IVF-ET cycles among women with recurrent implantation failure. *J Assist Reprod Genet*. 2008;25(2-3):103-6.
52. Marquard K, Westphal LM, Milki AA, Lathi RB. Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35 years. *Fertility and sterility*. 2010;94(4):1473-7.
53. Carp HJ. Recurrent miscarriage: genetic factors and assessment of the embryo. *Isr Med Assoc J*. 2008;10(3):229-31.
54. Rubio C, Pehlivan T, Rodrigo L, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Embryo aneuploidy screening for unexplained recurrent miscarriage: a minireview. *American journal of reproductive immunology*. 2005;53(4):159-65.
55. Stephenson MD, Sierra S. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement. *Human reproduction*. 2006;21(4):1076-82.
56. Elghezal H, Hidar S, Mougou S, Khairi H, Saad A. Prevalence of chromosomal abnormalities in couples with recurrent miscarriage. *Fertility and sterility*. 2007;88(3):721-3.
57. van den Boogaard E, Hermens RP, Verhoeve HR, Kremer JA, van der Veen F, Knecht AC, et al. Selective karyotyping in recurrent miscarriage: are recommended guidelines adopted in daily clinical practice? *Human reproduction*. 2011;26(8):1965-70.

58. Stenchever M, Droegemueller W, Herbst A, Mishell D. spontaneous and recurrent abortion. *Comprehensive Gynecology* (4th edition). St. Louis: MO: CV Mosby; 2001. p. 280-99.
59. Keymolen K, Staessen C, Verpoest W, Michiels A, Bonduelle M, Haentjens P, et al. A proposal for reproductive counselling in carriers of Robertsonian translocations: 10 years of experience with preimplantation genetic diagnosis. *Human reproduction*. 2009;24(9):2365-71.
60. Tulandi T, Al-Fozan HM. Evaluation of couples with recurrent pregnancy loss: up to date; 2013. Available from: <http://www.uptodate.com/evaluationofcoupleswithrecurrentpregnancyloss>.
61. Sheiner E, Levy A, Katz M, Mazor M. Pregnancy outcome following recurrent spontaneous abortions. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2005;118(1):61-5.
62. Yang C, Fangfang W, Jie L, Yanlong Y, Jie W, Xuefei L, et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion (I/D) polymorphisms and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(11):1167-73.
63. Munné S. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy and translocations using array comparative genomic hybridization. *Curr Genomics*. 2012;13(6):463-70.
64. Su MT, Lin SH, Chen YC, Kuo PL. Genetic association studies of ACE and PAI-1 genes in women with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost*. 2013;109(1):8-15.
65. D'Uva M, Micco PD, Strina I, Placido GD. Recurrent pregnancy loss and thrombophilia. *Journal of clinical medicine research*. 2010;2(1):18-22.
66. Carp HJA. Medical management of recurrent miscarriage—evidence-based approach. *Int Congr Ser*. 2004;1266:328-34.
67. Lino FL, Traina E, Barreto JA, Moron AF, Mattar R. Thrombophilic Mutations and Polymorphisms, Alone or in Combination, and Recurrent Spontaneous Abortion. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2014.
68. Krabbendam I, Franx A, Bots ML, Fijnheer R, Bruinse HW. Thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a critical appraisal of the literature. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2005;118(2):143-53.
69. Torabi R, Zarei S, Zeraati H, Zarnani AH, Akhondi MM, Hadavi R, et al. Combination of thrombophilic gene polymorphisms as a cause of increased the risk of recurrent pregnancy loss. *J Reprod Infertil*. 2012;13(2):89-94.
70. Ocak Z, Özlü T, Ozyurt O. Association of recurrent pregnancy loss with chromosomal abnormalities and hereditary thrombophilias. *Afr Health Sci*. 2013;13(2):447-52.

71. Di Nisio M, Rutjes AW, Ferrante N, Tiboni GM, Cuccurullo F, Porreca E. Thrombophilia and outcomes of assisted reproduction technologies: a systematic review and meta-analysis. *Blood*. 2011;118(10):2670-8.
72. Mtiraoui N, Borgi L, Hizem S, Nsiri B, Finan RR, Gris JC, et al. Prevalence of antiphospholipid antibodies, factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A mutations in early and late recurrent pregnancy loss. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2005;119(2):164-70.
73. Sottilotta G, Oriana V, Latella C, Luise F, Piromalli A, Ramirez F, et al. Genetic prothrombotic risk factors in women with unexplained pregnancy loss. *Thromb Res*. 2006;117(6):681-4.
74. Kim NK, Choi YK, Kang MS, Choi DH, Cha SH, An MO, et al. Influence of combined methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and thymidylate synthase enhancer region (TSER) polymorphisms to plasma homocysteine levels in Korean patients with recurrent spontaneous abortion. *Thromb Res*. 2006;117(6):653-8.
75. Jahaninejad T, Ghasemi N, Kalantar SM, Sheikhha MH, Pashaiefar H. StuI polymorphism on the androgen receptor gene is associated with recurrent spontaneous abortion. *J Assist Reprod Genet*. 2013;30(3):437-40.
76. Traina E, Daher S, Moron AF, Sun SY, Franchim CS, Mattar R. Polymorphisms in VEGF, progesterone receptor and IL-1 receptor genes in women with recurrent spontaneous abortion. *J Reprod Immunol*. 2011;88(1):53-7.
77. Lee J, Oh J, Choi E, Park I, Han C, Kim do H, et al. Differentially expressed genes implicated in unexplained recurrent spontaneous abortion. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(12):2265-77.
78. Diagnóstico Genético Pré-implantação e Rastreo de Aneuploidias Pré-implantação. Orientações relacionadas com o DGPI [Internet]. 2013 April 17th 2014. Available from: [www.cnpma.org.pt](http://www.cnpma.org.pt).
79. Basille C, Frydman R, El Aly A, Hesters L, Fanchin R, Tachdjian G, et al. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2009;145(1):9-13.
80. Sampson JE, Ouhibi N, Lawce H, Patton PE, Battaglia DE, Burry KA, et al. The role for preimplantation genetic diagnosis in balanced translocation carriers. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004;190(6):1707-11; discussion 11-3.
81. *Preimplantation genetic screening (PGS) for aneuploidy*. [Internet]. 2013. Available from: <http://www.uptodate.com/preimplantationgeneticscreeningforaneuploidy>.
82. Oliva Teles N. [Preimplantation genetic diagnosis: technical and ethical considerations]. *Acta Med Port*. 2011;24(6):987-96.

83. Kochhar PK, Ghosh P. Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013;39(1):113-20.
84. Musters AM, Repping S, Korevaar JC, Mastenbroek S, Limpens J, van der Veen F, et al. Pregnancy outcome after preimplantation genetic screening or natural conception in couples with unexplained recurrent miscarriage: a systematic review of the best available evidence. *Fertility and sterility.* 2011;95(6):2153-7, 7.e1-3.
85. Hammoud AO, Merhi ZO, Diamond M, Baumann P. Recurrent pregnancy loss and obstetric outcome. *Int J Gynecol Obstet.* 2007;96(1):28-9.
86. Musters AM, Koot YE, van den Boogaard NM, Kaaijk E, Macklon NS, van der Veen F, et al. Supportive care for women with recurrent miscarriage: a survey to quantify women's preferences. *Human reproduction.* 2013;28(2):398-405.